

抗HIV薬の感染予防効果の解析

研究分担者

川村 龍吉 山梨大学医学部附属病院 皮膚科 講師

研究要旨

HIVの世界的流行を阻止すべく、コンドーム以外の方法で性行為HIV感染を予防する新たな薬剤（マイクロビサイド）の開発が世界中で精力的に行われている。今回の我々の研究結果から、新規HIV治療薬であるマラビロック（MVC）を少なくとも三日間内服することによって、表皮内ランゲルハンス細胞がHIVに対して非常に強い感染抵抗性を持つことが明らかとなった。HIVは性器粘膜・皮膚から表皮内ランゲルハンス細胞への感染を介して生体内に侵入することが明らかとなっているため、MVCが内服マイクロビサイド、すなわち性行為HIV感染予防薬として臨床応用可能であることが示唆された。このMVC内服による感染抑制の機序としては、内服後に同剤が速やかに表皮内に到達し、ランゲルハンス細胞に発現されるCCR5に結合することでHIV感染を阻害していると考えられた。さらに、MVC内服後に同剤が精液へ移行することも明らかとなり、男性がMVCを内服することで精液中に移行したMVCがさらなるHIV感染抑制効果を発揮する可能性も示唆された。

A. 研究目的

本邦では、他の先進国の新規HIV感染者数が減少傾向に転じつつあるのに対し、依然年間千人を上まわるペースで増加し続けている。現在のHIVの流行を阻止すべく、コンドーム以外の方法で性行為HIV感染を防ぐマイクロビサイドの開発が全世界で精力的に推し進められている。世界における新規HIV感染の約8割は異性間の性的接触によるが、近年「異性間性行為においてHIVは皮膚・粘膜表皮内ランゲルハンス細胞（以下LC）の感染を介して生体内に侵入する」という我々がこれまで提唱してきた仮説が世界的に認められつつある。本研究の目的は、抗AIDS治療薬として開発されたCCR5阻害薬；Maravirocを性行為前に内服することによってHIV感染を予防できるか、すなわちMaravirocが内服マイクロビサイドとして応用可能であるかを検討することにある。本研究は、新しい性行為HIV感染予防法の開発に貢献することが期待され、またDiscordant couple（どちらか一方がHIVに感染しているカップル）の生殖補助療法へのトランスレーショナルリサーチとしても重要であると考えられる。

B. 研究方法

i) 被験者（ボランティア）の対象集団と標本の定義：20歳以上の健常男性で、一般健康状態が良好な者（生命にかかわる疾患、麻痺性疾患にかかっていない。長期にわたるステロイド服薬歴がない）。除外基準（exclusion criteria）；HIV感染者。研究責任者は、候補となる被験者が取り込み基準を満たし、除外基準に該当しないことを確認した上で、被験者として登録した。

ii) MVC（300mg×2/day）を1日、3日、あるいは14日間内服した健常ボランティア（各2～4名）から表皮、血液、精液を採取し（最終内服2時間後）、MVC濃度を測定した。

iii) 近年我々は、経皮HIV侵入メカニズムを解明するため、表皮水疱蓋を用いた新規ex vivo HIV感染モデルを確立した（Kawamura T et al. *J Exp Med* 192:1491-1500. 2000）。このモデルを用いて、性行為HIV感染におけるCCR5阻害薬；Maraviroc（シーエルセントリ：ファイザー製薬）の経皮的HIV感染阻害効果を検討した。まず、Maraviroc内服前あるいは内服後に健常ボランティアから皮膚（表皮）を表皮水疱蓋として採取する。この表皮シートにHIV

(HIV_{Bal} ; R5 HIV) を曝露し、2時間後に表皮シートをPBSにて3回洗浄後培養液に浮かべる。HIV曝露3日後に表皮シートから遊走した細胞 (skin emigrants ; 90%以上がLC) を回収し、skin emigrantsをPE標識抗CD11c抗体で染色後、FITC標識抗HIVp24抗体でintracellular stainingし、フローサイトメトリーにて解析した。

iv) 上記において得たHIV曝露3日後のskin emigrantsを自己CD4陽性T細胞と2週間共培養し、培養上清中のHIVp24をELISAにて継時的に測定し(上清中のHIVは99%以上がT細胞より産生される)、HIV感染LCからCD4陽性T細胞へのHIV播種・伝播能を定量した。

(倫理面への配慮)

Maraviroc血液・精液中濃度測定に関する研究は平成21年9月に山梨大学倫理委員会の上承を得ている(承認番号:535)。また、Maraviroc内服ボランティアから採取した皮膚を用いる研究についても同倫理委員会の上承を得ている(承認番号:598)。本研究において用いられる精液、血液および皮膚(表皮)は、ボランティア本人のインフォームドコンセントを得てから使用している。また、ヒト皮膚を用いたex vivo HIV感染に関しても、同倫理委員会の上承を得ている(承認番号:237)。

C. 研究結果

i) Discordant coupleにおいて、HIV感染者と性行為を行なうHIV非感染者がMaravirocを内服するケースを想定し、Maraviroc内服前と内服後のボランティアの表皮内LCのHIV易感染性を比較した。す

べてのボランティアにおいて、MVC内服前(Pre)における表皮内LCのHIV感染が種々の程度で認められた(0.67-3.11%)。しかし、MVCを3日間(ボランティア3、4)あるいは14日間(ボランティア5、6)内服したボランティアではいずれにおいても、表皮内LCのHIV感染率(Post)は0.00%と完全に抑制された(% inhibition: 100%、図1)。一方、MVCを1日間で内服したボランティア1、2ではHIV感染は完全には抑制されなかった(% inhibition: 91.5%および89.6%、図1)。

ii) MVC内服前(Pre)では、すべてのボランティアにおいて、HIV曝露表皮より遊走したHIV感染LCからCD4陽性T細胞へのHIV播種・伝播が観察された(図2)。しかし、MVCを3日間(ボランティア3、4)あるいは14日間(ボランティア5、6)内服した後は、T細胞より産生される上清中のHIVが同定されず、HIV曝露表皮中LCからCD4陽性T細胞へHIV播種・伝播されていないことが確認された(図2)。一方、MVCを1日間で内服したボランティア1、2では、HIV播種・伝播は完全には抑制されなかった(図2)。

iii) さらに、MVC内服後の同剤の皮膚(表皮)、血清あるいは精液への移行を検討した(図3)。MVCを1日あるいは3日間で内服した場合の表皮内平均MVC濃度(n=2)は、それぞれ19.5±0.1nM、19.5±5.5nMであった。また、血清および精液中平均MVC濃度(n=4)はそれぞれ1日間で内服: 196.1±182.7nM、233.0±205.6nM、3日間で内服: 643.0±403.4nM、297.2±209.5nM、14日間で内服: 1119.7±888.6nM、199.7±97.0nMであった(図3)。

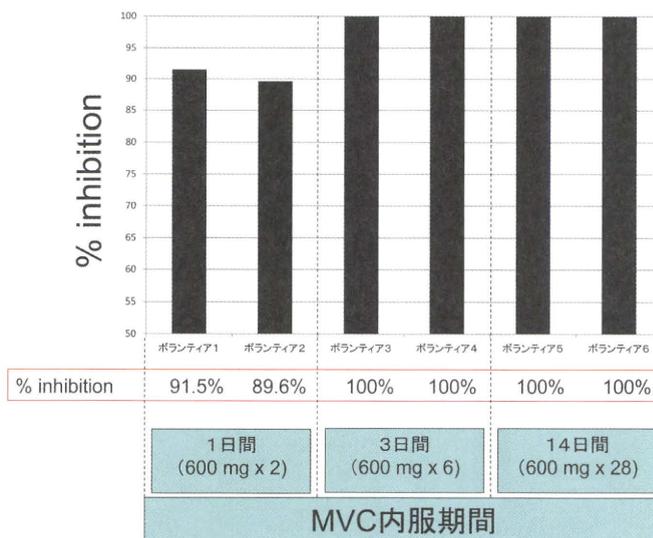


図1

D. 考察

HIVの世界的流行を阻止すべく、新たなHIV感染予防法の開発に向けてウイルスの侵入メカニズムに関する研究が現在精力的に行われている。これまでの研究から性行為HIV感染におけるHIVの皮膚・粘膜を介した生体内侵入には表皮内LCのCD4/CCR5を介した感染が必須であることが明らかとなってきた。HIV感染に対する有効なワクチンが存在しない現在、新たなHIV感染予防法の開発が世界中で精力的に行われているが、最近外用マイクロビサイドの有効性が世界で初めて臨床的に示された (Karim Q.A. et al. *Science* 329:1168-1174. 2010)。このランダム化2重盲検比較試験において、Tenofovirゲルを性行為前に膣に外用することで、女性の性行為HIV感染が約39%抑制されることが明らかとなった。現在さらに有効なマイクロビサイドの開発および臨床試験が進行中であるが、今回の我々の研究結果から、

MVCを3日以上内服したヒト皮膚内 *in situ* LCはHIV感染に対して非常に強い抵抗性を持つことが明らかとなった (図1、2)。異性間性行為HIV感染におけるウイルスの皮膚・粘膜を介した生体内侵入にはLCへの感染が必須であることから、これらの結果はMVC内服によって性行為HIV感染を予防できる可能性、すなわちMVCの内服マイクロビサイドとしての有用性を示唆している。

このMVC内服による感染抑制の機序としては、内服したMVCが速やかに表皮内に到達し (図3A)、LCに発現されるCCR5レセプターに結合することでLCのHIV感染を阻害していると考えられた。また、図3Bに示す如く、MVC内服後に同剤が精液への移行することが初めて明らかとなったことより、性行為前にDiscordant coupleの男性側がMVCを内服することで、精液中に移行したMVCがさらなるHIV感染抑制効果を発揮する可能性も示唆された。

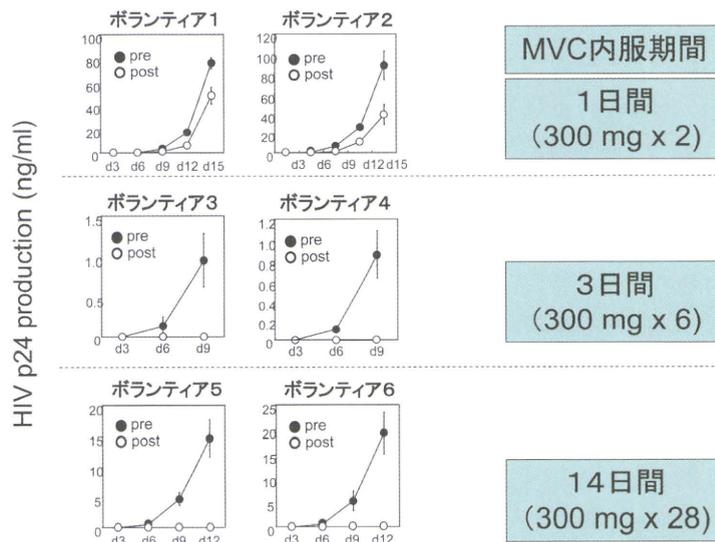


図2

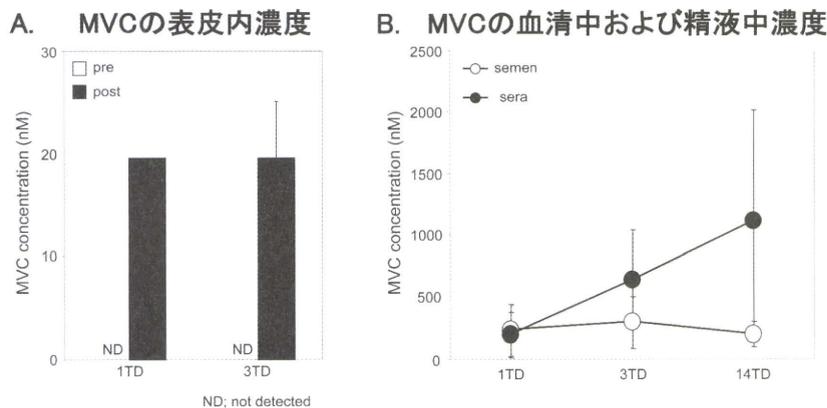


図3

E. 結論

今回の研究によりMVCを内服したヒトの表皮内LCはHIV感染に対して非常に強い抵抗性を持つことが明らかとなった。このことから、AIDS治療薬として開発されたMVCが性行為HIV感染予防薬として実用可能であることが示唆され、同剤が内服マイクロビサイドとして臨床応用可能であることが示唆された。また、MVCを内服したヒトの表皮および精液中に同剤が十分量（10nM以上）移行することも明らかとなり、MVCを内服マイクロビサイドとして性行為HIV感染予防、特にDiscordant coupleの生殖補助療法として応用する際には、Discordant coupleの男女双方がMVCを内服することで、さらに強力なHIV感染抑制効果が得られることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

原著論文による発表（欧文のみ）

- 1) Ogawa, Y., Kawamura, T., Kimura, T., Ito, M., Blauvelt, A., and Shimada, S. Gram-positive bacteria enhance HIV-1 susceptibility in Langerhans cells, but not in dendritic cells, via Toll-like receptor activation. *Blood* 113:5157-5166, 2009.
- 2) Nakano, H., Nakamura, Y., Kawamura, T., Shibagaki, N., Matsue, H., Aizu, T., Rokunohe, D., Akasaka, E., Kimura, K., Nishizawa, A., Umegaki, N., Mitsunashi, Y., Shimada, S., and Sawamura, D. Novel and recurrent nonsense mutation of the SLC39A4 gene in Japanese patients with acrodermatitis enteropathica. *Br J Dermatol.* 161:184-186, 2009.
- 3) Mitsui, H., Shibagaki, N., Kawamura, T., Matsue, H., and Shimada, S. A clinical study of Henoch-Schönlein Purpura associated with malignancy. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 23:394-401, 2009.
- 4) Nakamura, Y., Kambe, N., Deguchi, N., Kawamura, T., Shibagaki, N., Matsue, H., and Shimada, S. Agminated acquired melanocytic naevus modified by vitiligo vulgaris arising in the elderly. *Clin Exp Dermatol.* 2009 34:e377-8.
- 5) Nakagomi, D., Harada, K., Yagasaki, A., Kawamura, T., Shibagaki, N., and Shimada, S. Psoriasiform eruption associated with alopecia areata during infliximab therapy. *Clin Exp Dermatol.* (In Press)

- 6) Kawamura T, Ogawa Y, Shimozato O, Ando T, Nakao A, Kobata T, Okumura K, Yagita H, Shimada S. CD70 is selectively expressed on Th1, but not Th2, cells and required for Th1-type immune responses. *J Invest Dermatol.* 2011 (In press)

2. 学会発表

- 1) Kawamura, T. Ogawa, Y. Izumi, A. Kodama, T. and Shimada, S. Severe and prolonged irritant contact dermatitis in zinc deficient mouse. The 69th Society for Investigative Dermatology Annual Meeting. 2009/5/7, Montreal, Canada.
- 2) Kawamura, T. Ogawa, Y. Izumi, A. Kodama, T. and Shimada, S. Severe and prolonged irritant contact dermatitis in zinc deficient mouse. The 9th World Congress on Inflammation. 2009/7/7, Tokyo, Japan
- 3) Kawamura, T. Mechanism for HIV invasion via skin or mucosa. The 4th Joint Meeting of Japanese Dermatological Association and Australasian College of Dermatologists. 2009/7/11 Sapporo, Japan
- 4) Aoki, R. Kawamura, T. Ogawa, Y. Goshima, F. Nishiyama, Y. and Shimada, S. Mast cells regulate the cytokine microenvironment of the skin in herpes simplex virus infection. The 19th Annual European Society for Dermatological Research Meeting. 2009/9/12 Budapest, Hungary
- 5) Kawamura T. : Strategies to prevent sexual transmission of HIV. The 11th KUMAMOTO AIDS Seminar / Global COE Joint International Symposium. Kumamoto, Japan. 2010
- 6) 川村龍吉、教育講演、HIV感染症の現状と治療指針、第109回日本皮膚科学会総会、大阪市、2010
- 7) 川村龍吉、CCR5阻害剤内服による性行為HIV感染予防の試み、エイズ予防財団主催第12回白馬シンポジウム in 徳島 —最先端のエイズ研究を徹底討論する—、徳島市、2010
- 8) 川村龍吉、HIVの生体内侵入メカニズム、シンポジウム2；HIV研究の新しい展開、第58回日本ウイルス学会、徳島市、2010
- 9) 川村龍吉、HIVの生体内侵入メカニズムと新たなHIV感染予防法の開発、リディアオリリー皮膚科学研究会、東京都、2011
- 10) 川村龍吉、HIVの職業および性行為における生体内侵入メカニズムとその予防、第141回HIVカンファレンス、名古屋市、2011

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

抗HIV療法の臨床効果に関する研究

研究分担者

塚田 訓久 (独)国立国際医療研究センター エイズ治療・研究開発センター
医療情報室長

研究要旨

強力な抗HIV療法 (Highly Active Antiretroviral Therapy, HAART) によりHIV感染者の予後は劇的に改善したが、長い治療歴を有する症例を中心として、副作用による薬剤不耐あるいは薬剤耐性蓄積のため十分な治療効果を得られない例が存在する。また現在推奨されているHAARTは従来のもものと比較して服薬が簡便となり自覚症状としての副作用は減少しているが、服薬期間の長期化に伴い、標準的な組み合わせに必ず含まれる核酸系逆転写酵素阻害薬 (NRTI) の長期毒性が今後大きな問題となる可能性がある。2006年以降ラテグラビル、ダルナビル、エトラビルンなど複数の新しい抗HIV薬が登場し、これらの組み合わせによって多剤耐性例、副作用不耐例いずれにおいても再び良好なコントロールを得られるようになった。本研究ではこれらの新規抗HIV薬の日本人における有効性と有害事象、さらにNRTIを使用しない新しい組み合わせの可能性について解析した。

A. 研究目的

薬剤耐性や副作用不耐のため既存薬によるコントロールが困難なHIV感染者に対する、RALを中心とした新規抗HIV薬を含む多剤併用療法の効果ならびに有害事象について検討する。さらに、2剤のNRTIを含む標準的な組み合わせによる治療継続が困難な症例に対して投与されたNRTI回避 (NRTI-sparing) レジメンの有効性を検討する。

B. 研究方法

国立国際医療研究センター エイズ治療・研究開発センターに通院中のHIV感染者を対象として、診療録を用いた後方視的解析を行った。各年度の研究内容は以下のとおり。

〈2008年度〉

多剤耐性あるいは副作用不耐のためコントロール不良となっているHIV感染者を対象に新規抗HIV薬を含む多剤併用療法を行い、その治療効果ならびに有害事象について解析した。解析対象の新規抗HIV薬として、インテグラーゼ阻害薬 (INI) ラルテグラビル (Raltegravir ; RAL)、新世代のプロテアーゼ阻害薬 (PI) ダルナビル (Darunavir;DRV)、新世代の非核酸系逆転写酵素阻害薬 (NNRTI) エトラビル

ン (Etravirine ; ETR)、融合阻阻害剤 (Fusion Inhibitor) Enfuvirtide (ENF) の4剤を選択した。

〈2009年度〉

新規抗HIV薬のうち選択される頻度が高まったRALに着目し、日本人HIV感染者における治療効果と有害事象について解析した。多剤耐性例の治療効果に関する解析も継続した。

〈2010年度〉

NRTI耐性あるいは副作用によるNRTI不耐のため適切な2剤のNRTIを選択できずRaltegravir (RAL) とRitonavirで増強したDarunavir (DRVr) の併用によるNRTI回避 (NRTI-sparing) レジメンによる治療を行った症例の治療成績を解析した。非核酸系逆転写酵素阻害薬など他の抗HIV薬を同時併用した症例は解析対象から除外した。

(倫理面への配慮)

治験中の新規薬剤の使用にあたっては、施設IRBの承認を得た上で、文書を用いて本人に説明し、文書による同意のもと投与した。また解析結果の報告に際しては、個人を特定できる情報を排除した。

C. 結果

〈2008年度〉

高度の蓄積耐性あるいは重篤な副作用のため既存薬の組み合わせにより良好な治療効果を得ることが期待できない多剤耐性例6例に対する新規抗HIV薬の併用療法の治療効果を解析した。

6例は20歳代から40歳代で、うち3例が血友病例であった。新規薬剤への変更後、6例中5例で良好なHIV抑制を達成できたが、1例は十分なコントロールを得られないまま死亡した。過去の治療歴ならびに蓄積耐性から、治療に成功した5例では新しい組み合わせの中に有効性を維持していると考えられる薬剤が2剤以上含まれていたのに対して、死亡した1例では効果を期待できる薬剤が1剤のみであり、機能的単剤投与の結果新規薬剤に対する耐性HIVが出現し治療失敗に至ったことが明らかとなった。

新規薬剤のうちENFに関しては注射部位の疼痛など高度の有害事象が認められ治療継続が困難であったが、ENFをRALに変更することにより治療効果を減ずることなく有害事象を軽減させることができた。

〈2009年度〉

2009年10月31日までにRaltegravirを含む多剤併用療法を開始した107例を対象に、治療成績、有害事象、薬剤耐性変異の出現頻度を解析した。107例のうち、初回治療薬として選択されたものが13例、治療中の薬剤変更の際に選択されたものが81例、治療中断後の再開の際に選択されたものが13例であった。

初回治療例においてRALが選択された理由は、心血管障害の既往を有するなど他剤の有害事象への懸念が6例、ワルファリンや精神科薬、化学療法薬など併存疾患に対する治療薬との相互作用の回避が7例であった。治療効果はいずれも良好で、経過観察可能であった10例のうち6例で投与開始後4週以内に血中HIV-RNA量は検出感度未満まで低下した。

HIVが良好に抑制されている状態でRALに変更された70例のうち、観察可能であった66例を感染経路により「血友病群」(N=26)と「非血友病群」(N=40)の2群にわけ解析を行ったところ、抗HIV療法開始からの期間(月)、過去の経験レジメン数、過去の失敗レジメン数はそれぞれ 160 ± 59.4 対 50 ± 43 、 6.9 ± 4.4 対 2.8 ± 1.8 、 3.2 ± 4.0 対 0.27 ± 0.63 と、いずれも血友病群で大きい傾向がみられた。血友病例のうち18例がNRTIのみによる治療歴を有していたのに対して、非血友病例ではこのような例は2例のみであった。血友病例のうち2例でRALに対する

耐性変異獲得が確認されたが、2例ともRALを含む治療が開始された時点で既にNRTI関連変異が蓄積しており、RALが機能的単剤投与に近い状態となっていたことが後の検討により明らかとなった。

有害事象に関する解析は95例を対象に行った。肝障害が6例、腹痛や腹膜炎などの腹部症状が4例、高熱が1例、全身倦怠感が4例、皮膚掻痒感が4例にみられ、それぞれ2例、4例、1例、3例、1例が投与中止に至った。臨床試験で報告されたより高い頻度で肝障害を呈することについて学会で報告した。肝被膜炎を呈した1例については症例報告を行った。

〈2010年度〉

2009年1月から2010年8月までの間にRALとDRVrの併用療法を開始したのは19例(うち17例が男性)であった。選択理由としてはTenofovir不耐が最多(15例)であった。過去の抗HIV薬暴露期間の中央値は46ヶ月(0-223ヶ月)であり、経験レジメン数の中央値は4種類(0-8種類)であった。19例のうち5例はPIを含む組み合わせの治療失敗歴があり、うち1例では過去にDRV関連変異(V32I、V47I)が検出された既往があった。RAL内服歴を有する症例はなかった。

RALとDRVrの開始時点で、19例中13例(68%)の血中HIV-RNA量は40copies/mL未満であった。開始時点で血中HIV-RNAが検出されていた6例のHIV-RNA量の中央値は228,000copies/mL(120-880,000copies/mL)であった。

19例のうち3例で3ヶ月以内に治療が変更されていた。変更理由は自己中断、RALアレルギー、転院が各1例であった。治療を継続した16例全例で、中央値47週(24-102週)の経過観察期間中、血中HIV-RNA量は一貫して100copies/mL未満に抑制されていたが、5例で低値(40-100copies/mL)のHIV血症が確認された。観察期間中にDRVあるいはRALに関連する新たな耐性変異出現は確認されなかった。

D. 考察

1996年以降行われるようになった多剤併用抗HIV療法(Highly Active Antiretroviral Therapy; HAART)により、HIV感染症はコントロール可能な慢性疾患となった。しかし1996年以前に治療を開始した症例(血友病例の多くがこれに含まれる)には、十分な効果を有さないNRTIの単剤あるいは2剤併用療法の結果耐性を蓄積している例が存在する。また初期のHAARTは服薬が煩雑で副作用も高度であり、良好な服薬アドヒアランスを維持できず薬剤耐性から治

療失敗に至る例も存在した。このような症例の治療に難渋する状態が長らく続いていたが、2006年以降複数の新規抗HIV薬が時期を同じくして使用可能となり、多剤耐性例に対しても再び有効な治療を行える可能性が高くなった。初年度の研究では新規抗HIV薬の多剤併用療法が日本人においても安全に使用可能であること、良好な治療成績を得るためには2剤以上の有効な抗HIV薬が併用されている必要があること、各薬剤の治療効果予測のためには過去の薬剤耐性検査のみでは不十分であり、過去の服薬歴とその治療効果の十分な分析が重要であることを明らかにした。

新規抗HIV薬を使用する際に併用薬の有効性が重要であることは、第2年度の研究でも確認された。長い治療歴を有する血友病例2例において治療中のRAL耐性変異出現が確認され、これは長期間の治療に伴う蓄積耐性による併用NRTIの効果不全からRALが機能的単剤投与となっていたためであることが判明したが、治療開始時点で行われた薬剤耐性検査ではこれは判断不可能であり、過去の治療歴の詳細な分析の重要性が確認された。RALの副作用については次年度も調査を継続し、非常に副作用が少なく安全とされているRALが、約1割という高頻度で肝障害を来すこと、肝障害のパターンには治療早期にGrade III以上の高度の肝障害を呈するものと、長期にわたりGrade II以下の肝障害にとどまり治療継続可能なものにわかれることが明らかとなった。ただし2群の背景の差に関しては今回の研究では明らかにすることができず、今後の検討が待たれる。

新規抗HIV薬の有効性と安全性が明らかになったが、標準治療ではこれに2NRTIが併用される。この標準的組み合わせは10年以上にわたる実績を有し、ウイルス学的効果に関しては信頼に足るものであるが、NRTI耐性あるいはNRTIの長期毒性のため、NRTIを選択できない症例が増加しつつある。RALとDRVrの併用療法は、DRVのgenetic barrierの高さとRALの強力かつ迅速な抗HIV効果の組み合わせによりNRTIに頼らず良好な効果を長期間維持できる可能性を有する非常に魅力的な組み合わせであるが、知見が少ないため、特に治療経験例において現段階では推奨される状態にはない。前年度までの研究結果に基づき、過去の治療歴および蓄積耐性を詳細に分析した上で、DRVの有効性が維持されている症例を対象として選択したところ、この新しい組み合わせが治療変更例においても十分な効果を維持しうることを示すことができた。ただし経過中に低値ながらHIV-RNAが検出された例がみられていた。このような低値のHIV血症の意義は明らかでない

が、これがRAL耐性獲得につながったとの報告もあり、厳重な経過観察が必要である。

NRTIに頼らず迅速かつ確実なHIV抑制を期待できるRALとDRVrの組み合わせは、NRTI不耐例のみならず、NRTI耐性が不明な状況下においても信頼しうる魅力的な組み合わせといえる。妊娠後期に行われたスクリーニングや術前検査でHIV感染が判明し時間的余裕のない症例においてこのような組み合わせが安全に使用できるかについて、今後も検討を続けたい。

E. 結論

3年間の研究を通じて、新規薬剤の安全性と有効性を確認することができた。同時に、有効性を発揮するためには有効な2剤以上の同時投与を要すること、服薬アドヒアランスが保たれなければ新規薬剤といえども機能し得ないことも再確認された。強力な新規抗HIV薬といえどもただ選択し処方するだけでは不十分で、症例の特性にあわせた緻密な薬剤選択と投与開始時からの緻密な経過観察が必要である。新規抗HIV薬の時代となって、HAARTの基本があらためて確認されたともいえる。

厳密な管理を行うことで、NRTIを含まない新しい組み合わせによっても長期にわたりHIV抑制効果を維持しうることも示された。さらなる知見の集積により、より個別最適化した治療を提供することが可能になると予想される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tsukada K, et al. Raltegravir-associated perihepatitis and peritonitis: a single case report. AIDS 2010, Vol 24 No.1. 160-161.

2. 学会発表

- 1) 塚田 訓久. HIV感染症「治療の手引き」. 第21回日本エイズ学会総会シンポジウム. 2008年11月 大阪.
- 2) 塚田 訓久. 新規抗HIV薬の使用経験と有害事象. 第21回日本エイズ学会総会. 2008年11月 大阪.
- 3) 塚田 訓久. Raltegravirを含む多剤併用療法の効果と有害事象. 第22回日本エイズ学会総会. 2009年11月 名古屋.
- 4) 塚田 訓久. Raltegravir/boosted-Darunavir併用によるNRTI sparing regimenの臨床成績. 第23回日本エイズ学会総会. 2010年11月 東京.

G. 知的財産権の出願・登録状況

(なし)

抗HIV薬の副作用・相互作用に関する研究

研究分担者

本田 元人 (独) 国立国際医療研究センター エイズ治療・研究開発センター 医師

研究要旨

① Warfarinと抗HIV薬の薬剤を安全に併用することを模索した。抗HIV薬 (raltegravir及びetravirine)とWarfarin併用例4例の検討の結果、Warfarin使用時のHARRTはRTV-nonboostのfAPVもしくはraltegravirが安全に併用可能ではないと考えられた。②降圧薬と抗HIV薬の併用についても模索した。Ca拮抗薬、β遮断薬はPI、NNRTIと薬物相互作用が存在するものの併用可能であると考えられたが、少量から降圧薬を開始するなど慎重な投与が必要と思われた。③日本人HIV感染者における動脈硬化症の実態を解明すべく頸動脈超音波検査および高感度CRP (hs-CRP) を用いて本研究を行った。HIV感染者は健常者に比しmax-IMT値が有意に厚く、心血管リスクが健常者に比し高いものと考えられた。

1) Warfarinと抗HIV薬併用例の検討

A. 研究目的

Warfarinは心疾患や血栓塞栓症の予防・治療薬として用いられている薬剤であるが、抗HIV薬と肝薬物代謝酵素 (P450) を介した薬物相互作用が存在する。しかしながらWarfarinの効果を確実に代替できる薬は存在せず、抗HIV薬内服患者に対しては慎重な観察の下に併用しているのが現状である。今回Warfarinと抗HIV薬を安全に併用する方法を模索した。

B. 研究方法

当院通院中のHIV感染患者よりWarfarinと抗HIV薬を併用している症例を抽出しretrospectiveに検討した。Warfarin効果の評価はプロトロンビン時間国際標準比 (PT-INR) にて行った。なお目標とするPT-INRは各症例・疾患ごとに異なる。

C. 研究結果

全員が男性で適応疾患は肺血栓塞栓症3例、慢性心房細動4例、心臓弁 (機械弁) 置換術後2例、深部静脈血栓症1例、門脈血栓症1例であった。各症例の背景ならびに経過を以下に示す。

①EFVとの併用例

〈症例1〉

30才代男性。EFV + ABC + 3TCの投与を受けていたが肺血栓塞栓症にてWarfarin導入となった。内服率は100%であった。PT-INR 1.5-2.5を目標に3mgでWarfarinを開始し5mgまで増量したが、1.09-1.55と目標PT-INRを維持できなかった。

〈症例2〉

30才代男性。20才代に心臓弁置換術 (機械弁) を受けたが受診中断、術後から内服していたWarfarinも中断となっていた。30才代に入りHIVが判明したため当院受診した。まずWarfarinを5mgにて再開し、目標PT-INR 1.8-2.8にコントロールできたのを確認の上、EFV + ABC + 3TCにてHAART開始した。HAART開始後Warfarin 5mgにてINR 3.7まで上昇したが、Warfarin 4mgに減量したところ、1.66-2.64とほぼ目標PT-INRを維持することができた。内服率は100%であった。

EFVとの併用例については、1例はほぼ目標PT-INRを維持することができたが、もう1例はWarfarinの作用を減弱する傾向がみられた。

②LPV/rとの併用例

〈症例3〉

50才代男性。LPV/r + ABC + 3TC内服中であったが、慢性心房細動のためWarfarin導入となった。内服率は100%であった。PT-INR 2.0-3.0を目標に1mgでWarfarinを開始し4mgまで増量したが、0.74-0.91

と変動なく、目標PT-INRを維持できなかった。この症例は多剤耐性変異があり、LPV/rを他の薬剤に変更するのが困難な症例である。

〈症例4〉

60才代男性。LPV/r + ABC + 3TC内服中であつたが、深部静脈血栓症を発症しWarfarin導入となった。内服率は100%であつた。PT-INR 1.5-2.5を目標に2.5mgでWarfarinを開始し5mgまで増量したが、実際は1.1-1.59と、ほとんど目標PT-INRを維持できなかった。

〈症例5〉

30歳代男性。LPV/r + ABC + 3TC内服中であつたが、下肢静脈血栓による肺塞栓症を発症しWarfarin導入となった。内服率は95-100%であつた。PT-INR 1.5-2.5を目標に1mgでWarfarinを開始し最大8.5mgまで増量したが、1.40-1.46と、ほとんど目標PT-INRを維持できなかった。このためLPV/rをnonboosted-fAPVに変更したところ、変更4日目・Warfarin 8.5mgにてPT-INR 2.59と上昇認めたため、Warfarin 4mgへ減量した。以降Warfarin 4-5mgにて1.65-2.7とほぼ目標PT-INRを維持できている。

LPV/rはWarfarinの作用を減弱する傾向がみられた。3例中1例はLPV/rをnonboosted-fAPVに変更したが、これによりWarfarinのコントロールは良好となった。

③fAPV/rとの併用症例

〈症例6〉

40才代男性。fAPV/r + ABC + 3TC内服中であつたが、深部静脈血栓症を発症しWarfarin導入となった。内服率は100%であつた。PT-INR 1.5-2.5を目標に1mgでWarfarinを開始し4mgまで増量したが、実際は1.1-1.41（ワンポイントのみ1.86）と、ほとんど目標PT-INRを維持できなかった。また経過中Warfarin量に変更がないにも関わらず、PT-INRが3前後になり、その30日後には1.2前後に低下していたことも2回観察された。

fAPV/r併用症例においてはWarfarinの効果が不安定になることが観察された。

④nonboosted-fAPVとの併用症例

〈症例7〉

60才代男性。慢性心房細動にてWarfarin 3mg内服中。目標PT-INR 1.5-2.5でコントロール良好であつた。fAPV + ABC + 3TCにてHAART開始後のINRは1.59-3.01（Warfarin 2.5-3mg INR 2.5以上は1回のみ）とほぼ目標PT-INRを維持することができた。内服率は100%であつた。

〈症例8〉

40才代男性。fAPV/r + ABC + 3TC内服中であつ

たが僧帽弁閉鎖不全症に伴う心不全の悪化のため僧帽弁置換術（機械弁）が施行された。術後はヘパリンとWarfarinを開始し、fAPV + ABC + 3TCにてHAARTを再開した。目標PT-INRは2.5-3.5であるが、Warfarin 2-2.5mgにてPT-INR 2.85 -3.65とコントロール良好であつた。内服率は100%であつた。

LPV/rよりnonboosted-fAPVに変更した症例5と併せると、Warfarinとnonboosted-fAPVとを併用した場合、比較的Warfarinの安定した効果が得られた。

⑤RALとの併用症例

〈症例9〉

50才代男性。慢性心房細動、脳塞栓症にてWarfarinの投与を受けていたがRAL + TDF + FTCにてWarfarin導入となった。内服率は100%であつた。PT-INR 1.5-2.5が目標であつたがWarfarin 3.5-4mgで、1.46-2.44とほぼ目標PT-INRを維持することができた。

〈症例10〉

50才代男性。RAL + ABC + 3TCにてHAART内服中であつたが門脈血栓症にてWarfarin導入となった。PT-INR 1.5-2.5を目標に3mgでWarfarinを開始した。2.5-3mgの増減にて、INR 1.46-2.14と、ほぼ目標PT-INRを維持することができた。内服率は100%であつた。

〈症例11〉

60才代男性。慢性心房細動にてWarfarin 3mg内服中。目標PT-INR 1.5-2.5でコントロール良好であつた。fAPV + ABC + 3TCにてHAART開始後のINRは1.59-3.01（Warfarin 2.5-3mg INR 2.5以上は1回のみ）とほぼ目標PT-INRを維持することができたが、Warfarin開始170日後にRAL + ABC + 3TCに変更した。変更後のINRは1.69-2.44（Warfarin 2.5-3mg）とほぼ目標PT-INRを維持できた。内服率は100%であつた。

〈症例12 ※症例3をLPV/r→RALに変更〉

50才代男性。LPV/r + ABC + 3TC内服中であつたが、慢性心房細動のためWarfarin導入となった。内服率は100%であつた。PT-INR 1.5-2.5を目標に1mgでWarfarinを開始し4mgまで増量したが、0.74-0.91と変動なく、目標PT-INRを維持できなかった。このPT-INRではWarfarinの効果が期待できなかったためWarfarin開始後180日目にWarfarinを中止した。この症例は多剤耐性変異があり、LPV/rを他の薬剤に変更するのが困難な症例であつたがRAL、ETRが日本でも市販されたことによりWarfarin中止後260日目にHARRTをRAL + ETR + ABC + 3TCに変更し同時にWarfarinも再開した。Warfarin 3.5mgにてINR 1.71-1.77と目標PT-INRを維持することができた。

D. 考察

WarfarinはS-とR-の二つの光学異性体により構成される薬剤で、S-は肝薬物代謝酵素であるCYP2C9、R-はCYP1A2、CYP3A4により代謝される。一方、HAARTのKey drugとして用いられる非核酸系逆転写酵素阻害薬とプロテアーゼ阻害薬は下記の表の如く肝薬物代謝酵素で誘導もしくは阻害するものがある。Warfarinと抗HIV薬は肝薬物代謝酵素（P450）を介した薬物相互作用が存在する。Warfarinと抗HIV薬の併用に関する報告はEFV、NVP、LPV/r、RTVについて存在するが、EFV、RTVはWarfarinの作用を増強し（Stefano B et al. : CID 2008, Newshan G et al. : AIDS 1998）、NVP、LPV/rは減弱する（Dionisio D et al. : AIDS 2001, Stefano B et al. : CID 2008）とされ、いずれも臨床的にWarfarinの代謝に悪影響をおよぼしている。本研究においては、Warfarinとnonboosted-fAPVもしくはRALとの併用が、最も安定したWarfarin効果が得られると考えられた。しかしながら症例数が少ない中での研究であるため今後も症例を集めて検討する必要があると考える。

E. 結論

Warfarinとnonboosted-fAPVもしくはRALとの併用が、最も安定したWarfarin効果が得られると考えられた。しかしながら症例数が少ない中での研究であるため今後も症例を集めて検討する必要があると考える。

2) HIV感染に合併した高血圧症における降圧薬の使用法

A. 研究目的

抗HIV療法の進歩によりHIV感染者の予後は大幅に改善した。このためHIV感染者も高齢化の時代へと突入すると予想されHIV感染者に合併した高血圧症の有病率も増加していくものと考えられている。しかしながら降圧薬であるCa拮抗薬、β遮断薬は抗HIV薬との薬物相互作用があり、実際の治療に際して問題となるためその解決策を探るため本研究を行った。

B. 研究方法

当院通院中のHIV感染患者より降圧薬を内服している症例を抽出し降圧薬の使用状況、有害事象等をretrospectiveに検討した。

C. 研究結果

1348例について診療録等を検討したところ、118例（8.8%）が降圧薬を併用していた。内訳はアンギオテンシンⅡ受容体拮抗薬（ARB）が70例、ACE阻害薬が13例、Ca拮抗薬が45例、β遮断薬が19例、利尿薬が25例、α遮断薬が2例であった。このうちCa拮抗薬とプロテアーゼ阻害薬（PI）併用例が27例、Ca拮抗薬と非核酸系逆転写酵素阻害薬（NNRTI）併用例が11例、β遮断薬とPI併用例が7例、β遮断薬とNNRTI併用例が3例であった。これら併用例においては過度の降圧、徐脈等降圧薬の有害事象はみられず、また降圧薬開始によりHIVのウイルスコントロールが悪化した例はなかった。またこれらの症例においては薬剤の添付文書に定められた上限を超えた降圧薬の投与を必要とせず、通常量の半量でCa拮抗薬、β遮断薬を開始していた（アムロジピンであれば5mgの所を2.5mgから開始）。

D. 考察

Ca拮抗薬、β遮断薬はPI、NNRTIと薬物相互作用が存在するものの併用可能であると考えられた。但し理論上の薬物相互作用を考慮すると、Ca拮抗薬の場合低用量（常用量の半分）から開始し増量する場合は4週間から3か月のゆっくりとした間隔で増量するなど慎重な投与が抗HIV薬を変更する場合（特にEFV・NVP・ETR→PIへの変更など大幅に薬物動態が変化する場合は薬物動態の変化を考慮に入れ、Ca拮抗薬を減量or中止した後に抗HIV薬を変更する、変更後は少量からCa拮抗薬を再投与or増量し慎重に観察することも検討する必要があるものと思われる。またβ遮断薬についてはCa拮抗薬程の薬物相互作用ではないにせよ十分な観察が必要であると考えられた。

E. 結論

Ca拮抗薬、β遮断薬はPI、NNRTIと薬物相互作用が存在するものの併用可能であると考えられた。但し理論上の薬物相互作用を考慮し十分な観察が必要であると考えられた。

3) HIV感染者における動脈硬化症

A. 研究目的

抗HIV薬の進歩はHIV感染者の予後を大幅に改善したが、その一方で各種の副作用が問題となっている。特にプロテアーゼ阻害薬による脂質異常症は大きな課題で、PI投与により心筋梗塞のリスクが上昇

するとの報告が存在する。またアバカビルは心筋梗塞のリスクを増大させ、血管内皮細胞を傷害することが報告されているが結論は出ていない。我々は日本人HIV感染者は、日本人全体に比し心・脳血管リスク因子である脂質異常症の有病率、喫煙率が有意に高く、32%の日本人HIV感染者が何らかの心・脳血管リスクを有することを明らかにした。今後はHIV感染者における動脈硬化症の改善、すなわち心・脳血管リスクを軽減させ、イベントを回避することがHIV感染者が長期療養を行う上で非常に重要な課題となると考えられる。本研究は日本人HIV感染者における動脈硬化症の実態を明らかにすることを目的として実施した。

B. 研究方法

平成22年4月より同年9月までに、頸動脈超音波検査および高感度CRP (hs-CRP) を実施された日本人HIV感染者36名を対象とし、診療録よりretrospectiveにデータを収集した。動脈硬化の評価として頸動脈超音波検査により両総頸動脈の内膜中膜複合体厚 (carotid intima media thickness (IMT)) のうち最大IMT (max-IMT) と高感度CRP (hs-CRP) を

検討した。本研究では頸動脈超音波検査の精度向上と検査者によるバイアスを避けることを目的としてmax-IMTは頸動脈超音波検査画像解析ソフトIntimaScopeにより計測した。

C. 研究結果及びD. 考察

患者背景を表1に示す。

プロテアーゼ阻害薬別の脂質データを図1に示す。有意差はないが、ロピナビルは未治療群に比べて中性脂肪が高い傾向にあった。LDLについては各群間に大きな差はなかった。

プロテアーゼ阻害薬別max-IMT値を図2に示す。有意差はないが、ロピナビルは未治療群に比べてmax-IMT値が高い傾向がみられた。ロピナビル内服群において中性脂肪が高い傾向にあり、これがロピナビル内服群におけるmax-IMT値に影響している可能性が推察された。

プロテアーゼ阻害薬の暴露期間とmax-IMT値との相関を図3に示す。有意な相関は見られなかった。

NRTI別max-IMT値を図4に示す。未治療群、アバカビル群、テノホビル群間に有意な差は見られなかった。

表1 患者背景

平均年齢	40.06歳 (26-68歳)	
未治療		8例
HAART 内服中	LPV/r ABC 3TC	14例
	LPV/r TDF FTC	1例
	ATV/r ABC 3TC	5例
	ATV/r TDF FTC	8例
心脳血管イベント発症例		0例

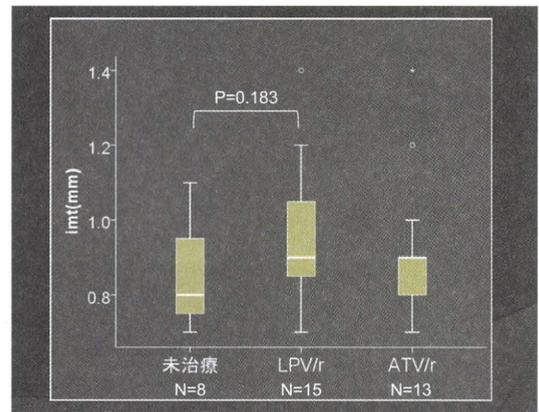


図2 プロテアーゼ阻害薬別max-IMT値

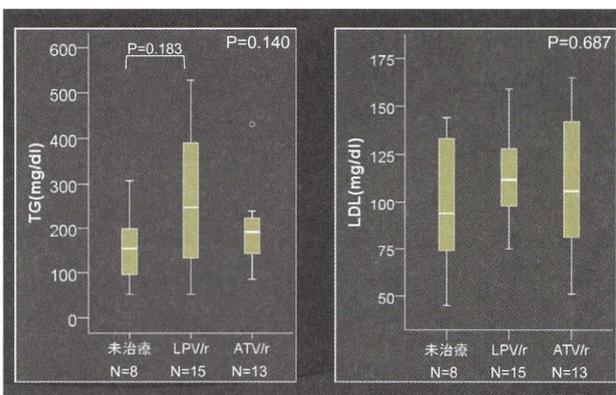


図1 プロテアーゼ阻害薬と脂質

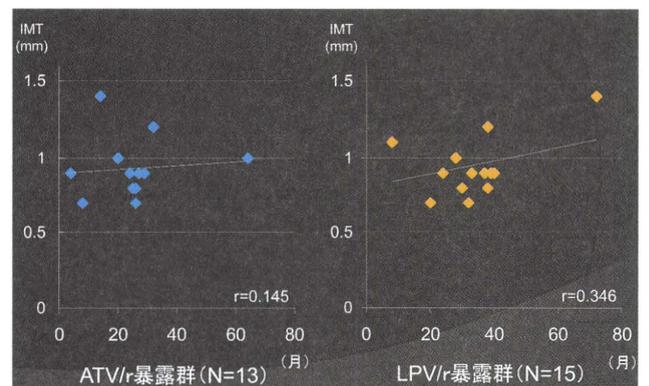


図3 PI暴露期間とmax-IMT値

max-IMT値と高感度CRPの相関を図5に示す。これらには有意な正の相関がみられた。HIV感染によりCRPへの何らかの影響が懸念されるが日本人HIV感染者において高感度CRPは動脈硬化の指標となりえるものと考えられた。

健常者との年代別IMT値の比較を図6に示す。健常者は既報告の長野県での健康診断時に頸動脈超音波検査を行った研究（北村ら Neurosonology 22(1): 4-10, 2009）と比較した。20代では症例数少ないため検討不可能ですが30代では健常者に比してHIV感染者の比しmax-IMT値が有意に厚く、心血管リスクが健常者に比し高いものと考えられた。

E. 結論

本研究においては有意差はなかったものの、

LPV/r内服群において中性脂肪が高い傾向にあり、これがLPV/r内服群におけるmax-IMT値に影響している可能性が考えられた。HIV感染者は健常者に比しmax-IMT値が有意に厚く、心血管リスクが健常者に比し高いものと考えられた。このため脂質異常症を有する症例においてはリスク管理のための頸動脈超音波検査は有用である。max-IMT値と高感度CRPはよく相関し、日本人HIV感染者においても高感度CRPは動脈硬化の指標となりえる。頸動脈超音波検査はHIV診療の領域では積極的に実施される検査ではない。このため症例数が限られretrospectiveな研究では限界がある。

2010年10月より日本人動脈硬化症の実態を詳細に検討するためのさらなる前向き研究を実施中である。

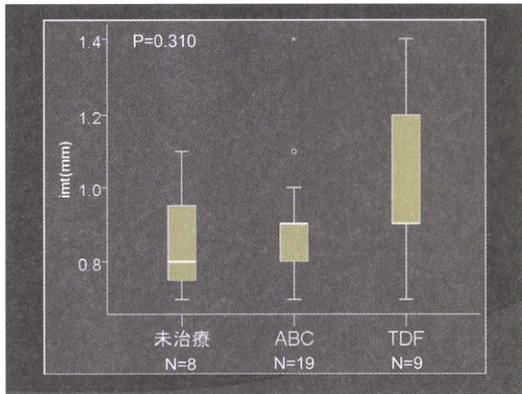


図4 NRTI別max-IMT値

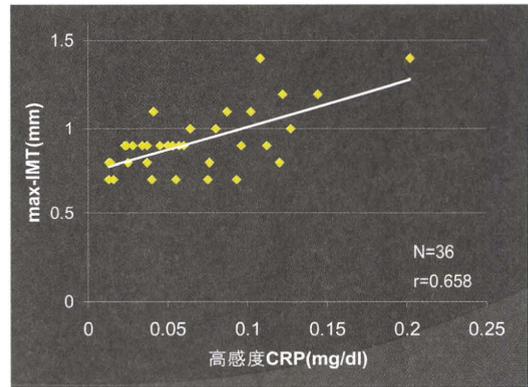


図5 max-IMT値と高感度CRPの相関

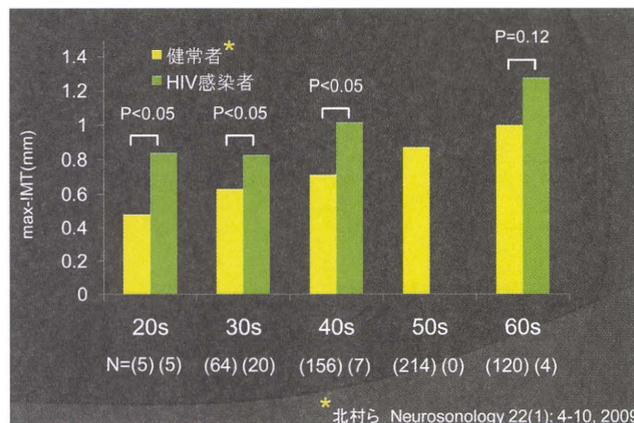


図6 健常者との年代別IMT値の比較

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Honda H, Gatanaga H, Matsumura J, Kamimura M, Goto K, Tsukada K, Honda M, Teruya K, Kikuchi Y, Oka S. Favourable use of non-boosted fosamprenavir in patients treated with warfarin. Int J STD AIDS 2009; 20:441.

2. 学会発表

- 1) 本田元人、Warfarinと抗HIV薬併用症例の検討 第21回日本エイズ学会2008、大阪.
- 2) 水島大輔、本田元人、Warfarinと抗HIV薬併用症例の検討（raltegravir及びetravirine）第22回日本エイズ学会2009、名古屋.
- 3) 本田元人、HIV感染者における高血圧症 第22回日本エイズ学会2009、名古屋.
- 4) 本田元人、HIV感染者における動脈硬化症 第23回日本エイズ学会2010、東京.
- 5) 本田元人、HIV感染者における高血圧診療の問題点 第33回日本高血圧学会総会 2010、福岡.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

刊行物一覧

研究業績 (平成20年度～平成22年度)

1. Hayashida T, **Gatanaga H**, Tanuma J, and Oka S. Effect of low HIV-1 load and antiretroviral treatment on IgG-capture BED-enzyme immunoassay. *AIDS Res Hum Retrovirus* 24: 495-498, 2008.
2. **Gatanaga H**, Honda H, and Oka S. Pharmacogenetic information derived from analysis of HLA alleles. *Pharmacogenomics* (review) 9: 207-214, 2008.
3. **Hachiya A**, **Kodama E**, Sarafianos SG, Schuckmann MM, Matsuoka M, Takiguchi M, **Gatanaga H**, and Oka S. Amino acid mutation, N348I, in the connection subdomain of HIV-1 reverse transcriptase confers multi-class resistance to NRTIs and NNRTIs. *J Virol* 82: 3261-3270, 2008, Epub 2008 Jan 23.
4. Yoshida S, **Gatanaga H**, Itoh T, Fujino M, Kondo M, Sadamasu K, Kaneda T, Gejyo F, Shirasaka T, Mori H, Ueda M, Takata N, Minami R, and **Sugiura W**. the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network. Prevalence of drug resistance associated mutations in newly diagnosed HIV/AIDS patients in Japan for 2003-2007. *Antivir Ther* 13: A162, 2008.
5. Tanuma J, Fujiwara M, Teruya K, Matsuoka S, Yamanaka H, **Gatanaga H**, Tachikawa N, Kikuchi Y, Takiguchi M, and Oka S. HLA-A*2402-restricted HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes and escape mutation after ART with structured treatment interruptions. *Microbes Infect* 10: 689-698, 2008, Epub 2008 Mar 29.
6. Bi X, Suzuki Y, **Gatanaga H**, and Oka S. High frequency and proliferation of CD4+FOXP3+ regulatory T cells in HIV-1 infected patients with low CD4 count. *Eur J Immunol* 39: 301-309, 2009, Epub 2008 Dec 16.
7. **Gatanaga H** and Oka S. Successful genotype-tailored treatment with small-dose efavirenz. *AIDS* (correspondence) 23: 433-434, 2009.
8. **Gatanaga H**, **Honda H**, **Tsukada K**, Tanuma J, Yazaki H, Honda M, Teruya K, Kikuchi Y, and Oka S. Detection of HIV-1 load by the Roche COBAS TaqMan assay in patients with previously undetectable load by the Roche COBAS Amplicor Monitor. *Clin Infect Dis* (correspondence) 48: 260-262, 2009.
9. Kawashima Y, Pfafferott K, Duda A, Matthews P, Addo M, **Gatanaga H**, Fujiwara M, Hachiya A, Kizumi H, Kuse N, Oka S, Brumme Z, Brumme C, Brander C, Allen T, Kaslow R, Tang J, Hunter E, Allen S, Mulenga J, Branch S, Roach T, John M, Mallal S, Heckerman D, Frater J, Prendergast A, Crawford H, Leslie A, Prado J, Ndungu T, Phillips R, Harrigan R, Walker B, Takiguchi M, and Goulder P. Adaptation of HIV-1 to HLA I. *Nature* 458: 641-645, 2009.

10. **Hachiya A**, Shimane K, Sarafianos SG, **Kodama EN**, Sakagami Y, Negishi F, Koizumi H, **Gatanaga H**, Matsuoka M, Takiguchi M, and Oka S. Clinical relevance of substitutions in the connection subdomain and RNase H domain of HIV-1 reverse transcriptase from a cohort of antiretroviral treatment-naïve patients. *Antiviral Res* 82: 115-121, 2009.
11. Davaalkham J, Unenchimeng P, Baigalmaa C, Oyunbileg B, Tsuchiya K, **Hachiya A**, **Gatanaga H**, Nyamkhuu D, and Oka S. High risk status of HIV-1 in the very low epidemic country, Mongolia, 2007. *Int J STD AIDS* 20: 391-394, 2009.
12. **Honda H**, **Gatanaga H**, Matsumura J, Kamimura M, Goto K, **Tsukada K**, Honda M, Teruya K, Kikuchi Y, and Oka S. Favorable usage of non-boosted fosamprenavir in patients treated with warfarin. *Int J STD AIDS* 20: 441, 2009.
13. Watanabe T, Yasuoka A, **Honda H**, Tanuma J, Yazaki H, **Tsukada K**, Honda M, **Gatanaga H**, Teruya K, Tachikawa N, Kikuchi Y, and Oka S. Serum (1-3) β -D-glucan as a non-invasive useful adjunctive diagnostic marker for Pneumocystis pneumonia in patients with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 49: 1128-1131, 2009.
14. **Tsukada K**, Teruya K, Tasato D, **Gatanaga H**, Kikuchi Y, and Oka S. Raltegravir-associated perihepatitis and peritonitis: a single case report. *AIDS* 24: 160-161, 2010.
15. Kawashima Y, Kuse N, **Gatanaga H**, Naruto T, Fujiwara M, Dohki S, Akahoshi T, Maenaka K, Goulder P, Oka S, and Takiguchi M. Long-term control of HIV-1 hemophiliacs carrying slow-progressing allele HLA-B*5101. *J Virol* 84(14): 7151-7160, 2010. Epub 2010 Apr 21.
16. Hattori J, Shiino T, **Gatanaga H**, Yoshida S, Watanabe D, Minami R, Sadamasu K, Kondo M, Mori H, Ueda M, Tateyama M, Ueda A, Kato S, Ito T, Oie M, Takata N, Hayashida T, Nagashima M, Matsuda M, Ibe S, **Ota Y**, Sasaki S, Ishigatsubo Y, Tanabe Y, Koga I, Kojima Y, Yamamoto M, Fujita J, **Yokomaku Y**, Koike T, Shirasaka T, Oka S, and **Sugiura W**. Trends in transmitted drug-resistant HIV-1 and demographic characteristics of newly diagnosed patients: nationwide surveillance from 2003 to 2008 in Japan. *Antiviral Res* 88(1): 72-79, 2010. Epub 2010 Aug 6.
17. Tanuma J, Hachiya A, Ishigaki K, **Gatanaga H**, Lien TT, Hien ND, Kinh NV, Kaku M, and Oka S. Impact of CRF01_AE-specific polymorphic mutations G335D and A731V in the connection subdomain of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) reverse transcriptase (RT) on susceptibility to nucleoside RT inhibitors. *Microbes Infect* 12(14-15): 1170-1177, 2010. Epub 2010 Aug 14.

18. Deforche K, Camacho RJ, Grossman Z, Soares MA, Van Laethem K, Katzenstein DA, Harrigan PR, Kantor R, Shafer R, and Vandamme AM. non-B Workgroup. Bayesian network analyses of resistance pathways against efavirenz and nevirapine. *AIDS* 22: 2107-2115, 2008.
19. Furuya K, Omura M, Kudo S, **Sugiura W**, and Azuma H. Recognition profiles of microsporidian *Encephalitozoon cuniculi* polar tube protein 1 with human immunoglobulin M antibodies. *Parasite Immunol* 30(1): 13-21, 2008.
20. Okuma K, Tanaka R, Ogura T, Ito M, Kumakura S, Yanaka M, Nishizawa M, **Sugiura W**, Yamamoto N, and Tanaka Y. Interleukin-4-Transgenic hu-PBL-SCID Mice: A Model for the Screening of Antiviral Drugs and Immunotherapeutic Agents against X4 HIV-1 Viruses. *J Infect Dis* 197(1): 134-41, 2008.
21. Bandaranyake RM, Prabu-Jeyabalan M, Kakizawa J, **Sugiura W**, and Schiffer CA. Structural analysis of human immunodeficiency virus type 1 CRF01_AE protease in complex with the substrate p1-p6. *J Virol* 82 : 6762-6766, 2008.
22. Hasegawa N, Sugiura W, Shibata J, Matsuda M, Ren F, and Tanaka H. Inferring within-patient HIV-1 evolutionary dynamics under anti-HIV therapy using serial virus samples with vSPA. *BMC Bioinformatics* 10: 360, 2009.
23. Iwatani Y, Chan DS, Liu L, Yoshii H, Shibata J, Yamamoto N, Levin JG, Gronenborn AM, and **Sugiura W**. HIV-1 Vif-mediated ubiquitination/degradation of APOBEC3G involves four critical lysine residues in its C-terminal domain. *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 19539-19544, 2009.
24. Hasegawa N, **Sugiura W**, Shibata J, Matsuda M, Ren F, and Tanaka H. Inferring within-patient HIV-1 evolutionary dynamics under anti-HIV therapy using serial virus samples with vSPA. *BMC Bioinformatics* 10: 360, 2009.
25. Land S, Cunningham P, Zhou J, Frost K, Katzenstein D, Kantor R, Chen YM, Oka S, DeLong A, Sayer D, Smith J, Dax EM, Law M; TAQAS Laboratory Network. TREAT Asia Quality Assessment Scheme (TAQAS) to standardize the outcome of HIV genotypic resistance testing in a group of Asian laboratories. *J Virol Methods* 159: 185-93, 2009.
26. Matsuyama S, Shimizu A, Ode H, Hata M, Sugiura W, and Hoshino T. Structural and energetic analysis on the complexes of clinically-isolated subtype C HIV-1 proteases and approved inhibitors by molecular dynamics simulation. *J Phys Chem* 114: 521-530, 2010.

27. Ibe S, **Yokomaku Y**, Shiino Teiichiro, Tanaka R, Hattori J, Fujisaki S, Iwatani Y, Mamiya, Utsumi M, Kato S, Hamaguchi M, and **Sugiura W**. HIV-2 CRF01_AB: First Circulating Recombinant Form of HIV-2. *JAIDS* (in press)
28. Ibe S, and **Sugiura W**. Clinical significance of HIV reverse transcriptase inhibitor-resistant mutations. *Future Microbiology* (in press)
29. Shibata S, **Sugiura W**, Ode H, Iwatani Y, Sato H, Tsang H, Matsuda M, Hasegawa N, Ren F, and Tanaka H. Within-host co-evolution of Gag P453L and protease D30 N/N88D demonstrates virological advantage in a highly protease inhibitor-exposed HIV-1 case. *Antiviral Research* (Epub ahead of print)
30. Fujisaki S, **Yokomaku Y**, Shiino T, Koibuchi T, Hattori J, Ibe S, Iwatani Y, Iwamoto A, Shirasaka T, Hamaguchi M, and **Sugiura W**. Outbreak of hepatitis B virus genotype A and transmission of genetic drug resistance in cases coinfecting with HIV-1 in Japan. *J Clin Microbiol* (Epub ahead of print)
31. Hirano A, Takahashi M, Kinoshita E, Shibata M, Nomura T, **Yokomaku Y**, Hamaguchi M, and **Sugiura W**. High performance liquid chromatography using UV detection for the simultaneous quantification of the new non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor etravirine (TMC-125), and 4 protease inhibitors in human plasma. *Biol Pharm Bull* 33(8): 1426-1429, 2010.
32. Bandaranayake RM, Kolli M, King NM, Nalivaika EA, Heroux A, Kakizawa J, **Sugiura W**, and Schiffer CA. The effect of clade-specific sequence polymorphisms on HIV-1 protease activity and inhibitor resistance pathways. *J Virol* 84(19): 9995-10003, 2010.
33. Suzuki S, Urano E, Hashimoto C, Tsutsumi H, Nakahara T, Tanaka T, Nakanishi Y, Maddali K, Han Y, Hamatake M, Miyauchi K, Pommier Y, Beutler JA, **Sugiura W**, Fuji H, Hoshino T, Itotani K, Nomura W, Narumi T, Yamamoto N, Komano JA, and Tamamura H. Peptide HIV-1 integrase inhibitors from HIV-1 gene products. *J Med Chem* 53(14): 5356-60, 2010.
34. Ibe S, **Yokomaku Y**, Shiino T, Tanaka R, Hattori J, Fujisaki S, Iwatani Y, Mamiya N, Utsumi M, Kato S, Hamaguchi M, and **Sugiura W**. HIV-2 CRF01_AB: first circulating recombinant form of HIV-2. *J Acquir Immune Defic Syndr* 54(3): 241-247, 2010.
35. Saeng-aroon S, Tsuchiya N, Auwanit W, Ayuthaya PI, Pathipvanich P, Sawanpanyalert P, Rojanawiwat A, Kannagi M, Ariyoshi K, and **Sugiura W**. Drug-resistant mutation patterns in CRF01_AE cases that failed d4T+3TC+nevirapine fixed-dosed, combination treatment: Follow-up study from the Lampang cohort. *Antiviral Res* 87(1): 22-29, 2010.

36. Matsuyama S, Aydan A, Ode H, Hata M, **Sugiura W**, and Hoshino T. Structural and energetic analysis on the complexes of clinically isolated subtype C HIV-1 proteases and approved inhibitors by molecular dynamics simulation. *J Phys Chem B* 114(1): 521-530, 2010.
37. Okada H, Kitazawa T, Harada S, Itoyama S, Hatakeyama S, **Ota Y**, and Koike K. Combined treatment with oral kanamycin and parenteral antibiotics for a case of persistent bacteremia and intestinal carriage with *Campylobacter coli*. *Intern Med* 47: 1363-1366, 2008.
38. Yanagimoto S, Tatsuno K, Okugawa S, Kitazawa T, **Tsukada K**, Koike K, Kodama T, Kimura S, Shibasaki Y, and **Ota Y**. A single Amino Acid of Toll-like Receptor 4 That Is Pivotal for Its Single Transduction and Subcellular Localization. *J Biol Chem* 284: 3513-3520, 2009.
39. Yamamura M, Makimura K, and **Ota Y**. Evaluation of a new rapid molecular diagnostic system for *Plasmodium falciparum* combined with DNA filter paper, loop-mediated isothermal amplification (LAMP) and melting curve analysis. *Jap J Infect Dis* 62: 20-25, 2009.
40. Yamamura M, Makimura K, Fujisaki R, Satoh K, Kawakami S, Nishiya H, and **Ota Y**. Polymerase chain reaction assay for specific identification of *Candida guilliermondii* (*Pichia guilliermondii*). *J Infect Chemother* 15: 214-218, 2009.
41. Yanagimoto S, Tatsuno K, Okugawa S, Kitazawa T, **Tsukada K**, Koike K, Kodama T, Kimura S, Shibasaki Y, and **Ota Y**. An essential single amino acid of Toll-like receptor 4 that is pivotal for its signal transduction and subcellular localization. *J Biol Chem* 284: 3513-3520, 2009.
42. Yoshino Y, Kitazawa T, Tatsuno K, **Ota Y**, and Koike K. Cryptococcal Pleuritis Containing a High Level of Adenosine Deaminase in a Patient with AIDS: A Case Report. *Respiration* 79:153-156, 2010.
43. Yoshino Y, Kitazawa T, Kamimura M, Tatsuno K, **Ota Y**, and Yotsuyanagi H. *Pseudomonas putida* bacteremia in adult patients: five case reports and a review of the literature. *J Infect Chemother* 2010 Sep 1. (in press)
44. **Kodama E**, Orita M, Masuda N, Yamamoto O, Fujii M, Ohgami T, Kageyama S, Ohta M, Hatta T, Inoue H, Suzuki H, Sudo K, Shimizu Y, and Matsuoka M. Binding modes of the novel non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, YM-215389 and YM-228855, to HIV-1 reverse transcriptase. *Antivir Chem Chemother* 19: 133-141, 2008.